果樹抗病育種

蕭吉雄

臺灣省農業試驗所

前　言

果樹爲多年生作物，具樹體開闊，佔地廣大，幼年期長又兼具遺傳高度異質結合等不利育種之特性，致育種成本偏高，惟果樹又具有經無性繁殖方式達到固定優良選株的遺傳組成的有利條件，而能迅速獲得優良選系，則爲種子繁殖作物所不及者。果樹因爲育種工作不易且又多以無性繁殖方式來大量繁殖苗木，因此病害問題相當普遍。例如香蕉的巴拿馬病（Panama disease）是由 Fusarium 所引起的萎凋病，在台灣又稱黃葉病，此病害在 1900 年代發生，在中南美洲加勒比海地區造成極大的損失。台灣原先種植之香蕉品種爲抗黃葉病之 Cavendish，然在1967年發生此病以後，黃葉病在台灣仍十分猖獗。此外，由 Pseudomonas所引起的細菌性病害Moko disease 或稱 Bacterial wilt 1911 年曾在千里達造成香蕉極大損失，此病在世界其他各地亦普遍發生。由病毒引起之香蕉萎縮病在台灣仍很嚴重。其他在台灣曾經或目前相當普遍的果樹病害有鳳梨之萎凋病，木瓜之輪點病，檬果之炭疽病，番石榴立枯病，柑桔之立枯病（黃龍病），百香果之病毒病等，均有相當程度之危害。尤其木瓜的輪點病毒病及百香果之病毒病發生後，使多年生之果樹變成一年生作物。

病害防治策略

果樹病害防治策略第一首重預防，也就是防止病原侵入，在英國曾在 1958 年經由立法對梨及蘋果之火疫病（Fire blight）得到很好的防治效果。此一法案分別在 1960 及1966 年修正，其主要內涵包括發現有任何可疑病例需向有關當局報告，並且禁止非常感病的品種繁殖。第二，其次就是選用健康的種苗，本省在百香果、柑桔及香蕉方面已建立良好的健康種苗繁殖體系，已有很好的成效。第三是清除病株及剪除有病枝條的田間衛生措施，如美國在柑桔潰瘍病(Canker)及宏都拉斯之香蕉黃葉病都是經由良好的田間管理而有很好之防治效果。第四，利用藥劑來防治果樹病害雖然相當有效，但有一些病害如病毒病就不易以藥劑來達到良好之防治。第五，栽培抗病品種可以說是最根本、安全，且農民不需另外付出代價。

果樹之抗病育種以溫帶國家對一些溫帶果樹研究最多，育成許多抗病品種。目前世界各國均有各種不同的果樹抗病育種計畫在進行，如蘋果對黑星病或稱瘡痂病（Scab），銹病（Rust），火疫病（Fire blight），潰瘍病（Canker）及白粉病（Powdery mildew），梨黑星病，火疫病，葉疫病（Leaf blight）及果斑病（Fruit spot），李潰瘍病及褐腐病（Brown rot），桃之潰瘍病，縮斑病（Leaf curl）及癌腫病（Crown gall），草莓葉燒病（Leaf scorch），葉斑病（Leaf spot），白粉病，萎凋病（Verticillium wilt），果腐病（Botrytis fruit rot）及紅柱根腐病（Red stele root rot），咖啡銹病，芒果炭疽病，木瓜輪點病及根腐病（Phytophthora root），葡萄根瘤線蟲，板栗疫病（Blight）及根腐病（Phytophthora root rot），香蕉黃葉病。

果樹抗病育種步驟

擬定一個果樹抗病育種計畫，其主要程序或步驟，包括訂定育種目標，搜集抗病種原，接種及抗病性檢定，瞭解抗病性的遺傳與機制以及應用之育種方法。

1.訂定育種目標：首先要瞭解一些重要果樹最主要之病害，這些病害爲該種類果樹生產上的瓶頸且不易由其他方式如化學藥劑或利用健康種苗來達到防治效果者，像木瓜輪點病，百香果之病毒病，番石榴之立枯病，香蕉之黃葉病等，都是台灣生產這些果樹主要之瓶頸，木瓜輪點病和百香果之病毒病是由病毒所引起，而番石榴立枯病及香蕉黃葉病爲土壤傳播性病害，化學藥劑防治非常困難。

2.蒐集抗病材料：進行抗病育種必須有抗病種原。從國外引進之抗病材料不一定就表現抗病，環境及生理小種可能會影響抗病材料抗性的表現。由查詢文獻資料可以知道某一果樹種類之品種對那一病害有抗性（見表一），可以向保存的單位或做此項抗病育種的研究人員索取。像美國加州 Davis保存桃，李，櫻桃，核果類及葡萄，紐約州之 Geneva 保存蘋果及葡萄，而在俄亥俄州之 Corvallis則保存小果類及梨等，（見表二）。

3.接種方法及抗病性檢定：要能成功的接種必須考慮到接種原的品質是否有致病性及新鮮度，在接種時，需將接種液均勻的噴灑在被測試植株上，並且要注意以能分辨抗病株與感病株之適當濃度的接種液，同時被檢測植株也要在最適合接種的狀況下來進行。抗病性檢定技術需視病源及果樹種類而定。一般而言抗性檢定可以在田間，溫室及利用植物離體來進行。在田間自然發病情況或用人工接種幼苗的方式來選拔抗病株，在苗期利用溫室或苗圃檢定，比較節省空間，能夠大量篩選較多植株，環境亦較容易控制。不論在溫室或苗圃進行苗期抗性檢定，其結果必須和田間成株的結果相符合才有意義。如蘋果黑星病，當幼苗有 3-5片本葉時檢定出具有抗性則成株亦表現抗病。有關果樹的接種技術可從 Moore and Janick 所編 Methods in Fruit Breeding 一書中所列之參考文獻獲得很好之資訊。

4.病害程度的評估：利用受檢植株受害程度之嚴重性加以評估是否具有抗性，評估的方法有調查植株死亡或萎凋數目，葉部或枝條病斑的大小或所占的比率，病徵的種類，病徵出現的快慢，產孢能力，根瘤之數目及大小等項來作爲評估的標準，（見圖一）。

5.抗病性遺傳與抗病機制：抗病遺傳主要可分爲由細胞質或細胞核所控制之遺傳。細胞質控制的遺傳如蘋果抗白粉病，草莓抗露菌病等都有母體遺傳的情形。細胞核遺傳有由少數主效基因及多數微效基因所控制兩種形式。少數基因所控制的抗性稱垂直式抗性。如蘋果抗黑星病已發現有六對各別獨立的單一顯性基因，（見表三）。而板栗的抗疫病係由兩對隱性基因所控制，葡萄之皮爾氏（Prerces'）病就是由 3對顯性基因相互作用的結果。由微效基因所控制或稱水平式抗性，就是抗病性由多數但抗性程度較低的基因所控制者，如桃縮葉病，蘋果火疫病，蘋果根腐病，蘋果白粉病及櫻桃葉斑病等均有此種情形。此外，蘋果之黑星病及咖啡銹病亦發現有基因對基因學說（Gene for gene concept）的現象。抗病機制可分爲眞抗病性，避病性和耐病性三種情形，避病性是寄主作物能逃避病原的入侵，主要是病原容易入侵的時刻（即寄主植物對病原最敏感的時刻），和植物生長發育狀態不能非常吻合，所以能避開病害的發生。耐病性係指寄主本身並不抗病，但產量及品質並不受到影響。眞抗病性最主要是寄主在病原侵入的過程或其在寄主組織內之生長發育及繁殖能力會產生不良的影響。眞抗病性之抗性機制又分成兩種狀況，其一是在病原入侵前即在寄主作物已存在的抗病機制，像某些細胞或組織比較堅厚，或有臘質，其二是當病原侵入後寄主所產生的抗性。如產生某些對病原生長發育或繁殖有害的化學物質等等。有些果樹如桃的早熟品種，其生長習性在秋天很快就會落葉，即可避免潰瘍病之危害就屬避病性。而桃和柑桔的一些品種對根瘤線蟲或根線蟲有耐病性。梨有一層臘質及蘋果有角質層都能抑制黑星病孢子的侵入，柑桔氣孔細胞的構造，可以減少潰瘍病的侵入。此外，當蘋果之黑星病菌和桃之穿孔病菌侵入植體組織後。寄主被侵入部位之組織迅速壞死而抑制了病原再進一步之擴張。

6.抗病育種方法：果樹抗病育種方法與其他作物常用之育種方法並無太大之差別，可以應用雜交育種，回交育種，遠緣雜交育種，一代雜交育種及組織培養育種法等方式，視果樹作物本身之繁殖方式，抗病性之遺傳方式，抗病種原等情況而定，如木瓜係利用種子繁殖可利用一代雜交育種，香蕉爲三倍體通常不產生種子之特性可應用組織培養法獲得有抗病之變異株，這兩種方法在台灣的果樹抗病育種都曾經應用過。

國外果樹抗病育種實例

(一)美國板栗抗疫病（Endothia parasitica）之回交育種計畫（請參考圖二）

本項美國板栗（木材用）抗病育種試驗，係早年由美國農部及康乃涅克州農業試驗場等單位合作或分別進行之工作，現由明尼蘇達大學的教授及相關人員整理所發表。本文是利用抗病之中國板栗（核果用）做爲非輪迴親和感病之美國板栗做爲輪迴親所進行的回交法之抗病育種

計畫，其主要步驟如下：

步驟1.以最抗病之中國板栗品種和美國板栗品種雜交，所獲得之 F_1 種植於隔離之 A-type 果園中（作回交用果園），並以具有致病性之疫病病菌行人工接種。因爲中國板栗不耐寒，此種果園必須設在板栗冬天不會被凍死之地區或 F_1 植株須加防寒保護。

步驟2.選中國板栗和美國板栗雜交之最抗病 F_1 植株和來自不同族群之美國板栗回交，種植所得之第一次回交後代（CxA^2）於回交果園以接受疫病病原之感染。當植株開花及結果期，經人工接種或依莖部上病原生長速度爲標準將認爲最感病之植株砍除。

步驟3.選拔最抗病之第一次回交世代植株。並回交到美國板栗以獲得第二次回交世代之植株。

步驟4.重複選拔並回交美國板栗以獲得第三次回交世代植株，並將此種植株種在最後之回交果園。

步驟5.除保留最抗病之第三次回交後代外，將回交果園內所有其他植株除去。經自然開花授粉以獲得第三次回交 F_2 種子並將之種在 B-type seed orchard，（產生 F_2 之果園）。

步驟6. 選拔BC_3F_2植株具有同質結合之抗病基因者，則表現出最高程度之抗病性。

(二)蘋果砧木育種

1968年位在美國紐約州 Geneva 之農業試驗場研擬一項蘋果砧木育種計畫，此計畫之育種目標包括有絕對必要性的 12 項，其中以抗火疫病及頸腐病（Crown rot）列爲首要目標，而對番茄輪點病毒之抗性反應亦列爲其中一項。另外認爲重要的特性有 8項，其中包括對蘋果 Wolly aphids及松田鼠之抗性。（見表四）

A.抗性初選（見圖三）

(1)以 Rob.5xM27，Bud.49xSissipuk，MM.111xP.22控制人工之雜交所得20,000株幼苗在12月至 1月間種植在溫室育苗盤中。

(2)頸腐病檢定係在育苗盤澆灌頸腐病菌之遊走孢子。

(3)存活之 8000株移植到其他之育苗箱中，並繼續維持在溫室內並用地面灌溉（Subirrigation).

(4)進行火疫病檢定是用皮下注射針將含有 10^7 個火疫病病菌注射入肥厚的嫩梢之頂部，(重複 5次）。

(5)存活之2000株再進行 Woolly apple aphids檢定（每隔 2週行連續 5次之大量釋放接種）。

(6)獲得 500株抗 Crown rot，火疫病及woolly apple aphids.

B.複選（見圖四）

(1)經初選後之當選株 500棵以壓條法繁殖產生發根苗。

(2)經過火疫病及 Woolly aphids之抗性再檢定及評估其他六種性狀獲得複選株 50棵。

(3)將複選株之發根苗種在苗圃，並將無病毒之 McIntosh, Northern Spy, Delicious及 Golden

Delicious的芽嫁接到這些複選株上。

(4)另外這些複選株的部份發根苗移做對不良環境的檢測。

(5)嫁接苗之生育評估。

(6)移到果園繼續作果園評估。

C.果園試驗（見圖五）

進行各項成株生長發育評估，包括早熟性，結果產能（開花密度，著果百分率及果實大小），固地性，根砧之側芽發生情形，樹型，開花期，根砧和接穗之親和性，對氣候土壤之適應性及其限制以及病蟲害發生情行。

D.對自然環境之檢定（見圖六）

包括對不良之氣候環境如低溫及潮濕之抵抗性及不良生物環境如火疫病，頸腐病，線蟲，忌地性，一般潛伏性病毒，番茄及菸草輪點病毒，南方根腐病及 Woolly apple aphids等之檢測試驗。

表一、11個桃品種對三種病害之抵抗性

Cultivar	Peach leaf curl	Peach blight	Brown rot
Mayflower	good	moderate	moderate
Sneed	slight	v.slight	good
Amsden	good	moderate	moderate
Sunbeam	good	slight	v.good
Red Bird	good	slight	v.good
Greensboro	slight	moderate	good
Carmen	slight	good	good
Peen-to	slight	moderate	v.slight
Orange Cling	moderate	good	v.good
Elberta	v. slight	good	v.good
J. H. Hale	v.slight	slight	moderate

From Plant Breeding Reviews Vol 7.

表二、美國無性繁殖作物保存園之位置及保存作物種類

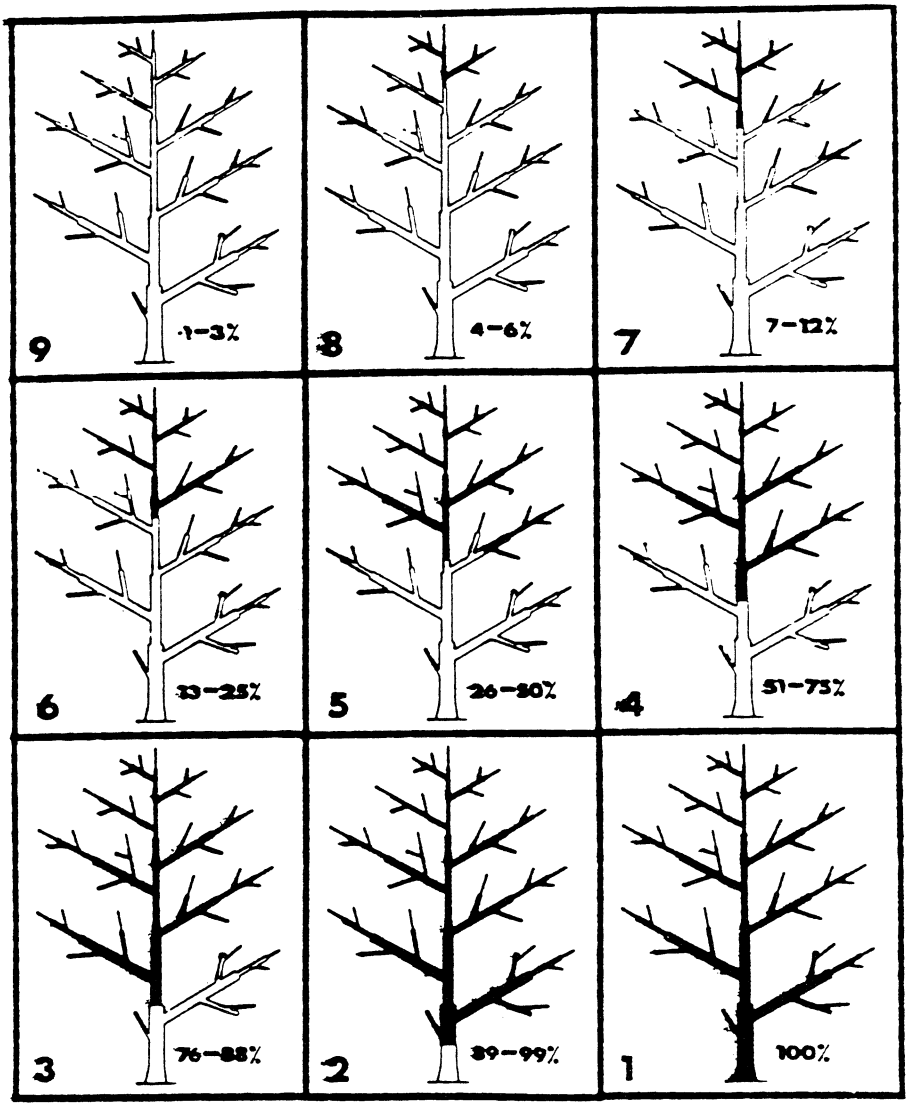
Repository Site	Establishment	Plant Genera to Maintain
Corvallis, Oregon	1980	Corylus (hazelnut), Fragaria(strawberry), Humulus(hops), Mentha(mint), Pyrus(pear),Ribes(currant, gooseberry), Rubus(raspberry, blackberry), Vaccinium, (blueberry, cranberry).
Davis, California	1981	Actinidia(kiwi), Diospyros(persimmon), Ficus(fig), Juglans(walnut), Morus(mulberry), Olea(olive), Pistacia(pistachio nut), Prunus(stone fruits), Punica(pomegranate), Vitis(grape).
Miami, Florida/Mayaguez, Puerto Rico	1984	Anacardium(cashew), Bertholettia(Brazilnut), Coffea(coffee), Mangifera(mango),Musa(banana), Persea(avocado). Theobroma (cacao), subtropical Zizyphus(jujube).
Geneva, New York	1985	Malus(apple), Vitis(American grapes and their hybrids).
Borwnwood, Texas	1984	Carya(pecan, hickory), Castanea(chestnut).
Hilo, Hawaii	1986	Ananas(pineapple), Arctocarpus(breadfruit), Carica(papaya), Macdamia(macadamia nut), Malpighia(acerola cherry), passiflora(passion fruit), Psidium(guava).
Orlando, Florida	1986	Citrus
Riverside/Brawley, California	1987	Citrus and related genera, Phoenix(date).

表三、蘋果黑星病抗基因及其來源

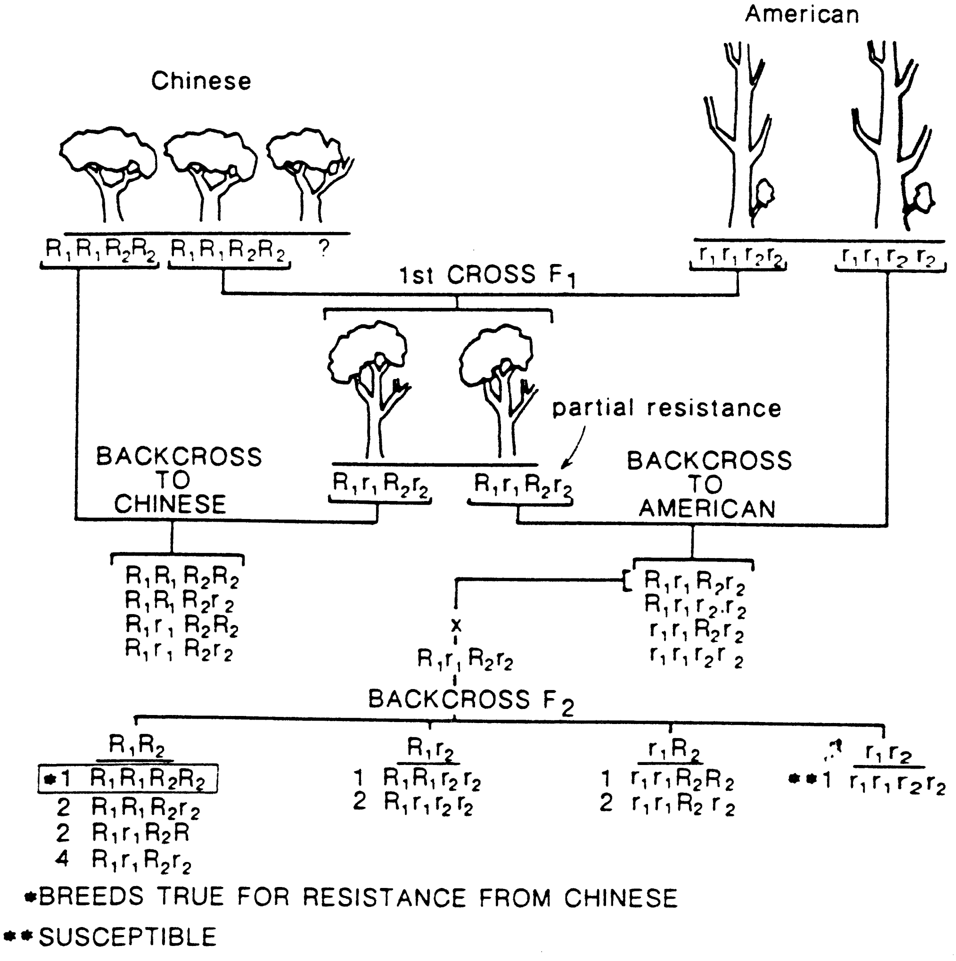
Symbol	Original Source
V_f	M. floribunda
V_m	M.micromalus
V_t	M.Pumila, R12740-A (Dayton et al., 1953)
V_{bi}	M.baccata, jackii
V_b	Hansen's baccata#2
V_a	Antonovka PI 172623

表四、美國紐約州 Geneva 蘋果根砧育種目標

Attribute	Minimum Standard	Ideal Standard
Priority: Essential		
1. Resistant to Erwinia amylovora(fire blight)	M.7	R.5
2. Resistant to Phytophthora spp.(crown rot)	M.9	Bud.9
3. Readily propagable	MM.106	A.2
4. Liners smooth. relatively free of spines	MM.106	O.3
5. Liners thrifty in nursery row; easily buddable	MM.106	A.2
6. Induce heavy, early fruit production	MM.106	M.9
7. Early hardening of scion and collar	M.2	M.9
8. Tolerant to low midwinter temperatures	MM.111	A.2
9. Late-learing in early spring	M.9	K.14
10. Free of burrknots	M.2	Hibernal
11. Reacting to TmRSV as does	M.7	Delicious
12. Induce no more scion susceptibility to E. amylovora than	M.7	
Priority: Important		
13. Resistant to woolly apple aphids	MM.111	R5
14. Roots structurally strong(not brittle)	M.26	M.7
15. Well anchored	M.7	M.111
16. Few or no suckers in orchard	MM.106	Hibernal
17. Inducing early maturation of fruit	M.2	M.9
18. Resistant to pine voles	R5	Novole
19. Hardy to very low temperatures in midwinter	M.26	R5
20. Tolerant of chlorotic leaf spot, apple stem grooving. and apple stem pitting viruses	M.9	M.9
Priority: Helpful		
21. Leaves red or otherwise distinctive	Bud.9:O.3	
22. Moderately resistant to Venturi inaegualis	M.7	
23. Moderately resistant to Podosphaera leucotricha	M.9	
24. Resistant to meadow vole	Sugar Crab	
Special Objectives		
Tree size control: full range, from dwarfing	M.9	
through vigorous	Alnarp2	
Some stocks tolerant of poorly drained soils	M.13	
Some stocks tolerant of rought	Mm.111	



圖一　美國農部在田間評估梨火疫病之發病程度所用之評分標準，主要依據組織之年齡及樹體被感染之百分率。



圖二　中國板栗和美國板栗育種圖，假設抗疫性係由兩對基因所控制，顯示親本，F1，回交到中國板栗和美國板栗以及回交到美國板栗F2的基因型。

PRIMARY RESISTANCE SCREENING

20,000 Seedings from controlled crosses, e.g., Rob.5×M.27, Bud.490×Sissipuk, MM.111×P.22. are planted in December-Feoruary in trays of clay-peat mix in the greenhouse.

↓

Crown rot test (seed trays are flooded with Phytophthora cactorum zoospores).

↓

8,000 Survivors are transplanted into peat-lite trays and maintained on subirragtion in the greenhouse.

↓

Fire blight tests (hypodermic needle injection of succulent shoot tips with 10^7 cells of Erwinia amylovora; repeated ca. 5 times).

↓

2,000 Survivors

↓

Woolly apple aphid test (5 massive intestations about 2 wk apart, using a Mesurol spray schedule).

↓

500 Preselections, resistant to Crown rot, Fire blight and Woolly apple aphid.

圖三　抗病初選圖：Geneva 之育種計畫中當雜交種子發芽後11個月，幼苗要接受三項接種篩選，以減少98%的雜交苗。

SECONDARY SCREENING

500 PRESELECTIONS

Trench Layer

Evaluate for:
Production of rooted stoolshoots
Freedom from excessive burrknot formation
Freedom from excessive numbers of spines
Freedom from brittleness
Timing of spring budbreak
Timing of autumn leaffall
Resistance to woolly aphids (retest)
Resistance to fire blight (retest)

50 SECONDARY SELEOTIONS

Line-out stoolshoots
in nursery
Bud to virus-free
'McIntosh.' ' Northern
Spy,' 'Delicious' and
Golden Delicious'

To
COROLLARY TESTING

Evaluate for:
Bud take
Thriftiness as liners
Budling growth and quality
Feather Prodaction
Suckering

To
ORCHARD TESTING

圖四　複選圜：當在Geneva 的溫室完成初選後，存活之初選株在燻蒸的土壤中壓條繁殖，複選工作包括在苗圃之特性評估，並再接種火疫病及Wooly apple aphids, 約10%的初選株在苗圃中存活。

ORCHARD TRIALS

Evaluate for:

Induction of precocity

Induction of productivity

- Bloom density
- Fruit set %
- Fruit size

Anchorage

Suckering

Tree Size Control

- Independent of crop load years 1－5

Timing of bloom

Compatibility with fruiting cultivars

Climatic adaptations ns and limitations

Soils adaptations and limitations

Pests and diseases

圖五　果園試驗：首次果園試驗係設計除去未能使Northern Spy ，和Delicious 早花及生長旺盛之砧木，第二次果園試驗則提供較多接穗品種嫁接到優良砧木選系並經各種環境之檢測。

COROLLARY TESTING

Responses to Hazards of Physical Environment

Hardiness
- Chilling requirements
- T50 of shoots in late fall, midwinter and early spring

"Wet Feet" sensitivity

Responses to Hazards of Biotic Environment

Fire Blight
- "X" inoculations of older wood
- New Pathotypes

Crown Rot
- Cut shoot laboratory tests
- Inoculation in orchard during fall of 6th season

Replant Disease
- Non-nematode factor — laboratory trials

Nematodes
- Direct injury
- As vectors of viruses

Common latent viruses
- CLSV
- ASPV
- ASGV

Tomato and tobacco ringspot viruses

Southern root rots

"Spy-capable" WAA

圖六　不良環境之檢測：當高級選系在Geneva 經第一次果園試驗外，試驗室內亦進行耐寒性及耐濕性及較老樹幹火疫病之抗性測試。在第一次果園測試最後一年，仍需接種頸腐病菌。第二次果園測試之優異選系仍需經一系列之不良環境（包括生物性及非生物性）之檢測。

參考文獻

1. 沈德緒 1980 果樹育種學 上海科學技術出版社

2. 孫守恭 1992 台灣果樹病害 世維出版社 台中・台灣

3. Jules Janick and James N. Moore. 1975 Advances in Fruit Breeding. Purdue University Press, West Lafayette, Indiana.

4. James N. Moore and Jules Janick. 1983 Methods in Fruit Breeding. Purdue University Press, West Lafayette, Indiana.

5. Russell, G. E. 1987. Plant Breeding for Pest and Disease. Butterworths, London.

6. James N. Cummins and Herb S Aldwinckle 1983 Breeding Apple Rootstocks. In: Plant Breeding Reviews Vol.1:294～ 394.

7. Scott, D. H. et al 1984. Breeding Strawberries for Red Stele Resistance. In Plant Breeding Reviews Vol.2:195～ 214.

8. Brunham, C. R. et al 1986 Breeding Blight-Resistant Chestnuts In: Plant Breeding Reviews Vol.4:347～ 397.

9. Westwood, M. N. 1989 Maintenance and Storage: Clonal Germplasm. In: Plant Breeding Reviews Vol.7:111～ 128.

10. Crosby, J. A. et al 1992. Breeding Apple for Scab Resistance: 1945～ 1990. Fruit Varieties Jour.46(3):145～ 166.

討　論

顏昌瑞：如何決定何種作物應優先考慮進行抗病育種？

蕭吉雄：首先決定作物的重要性和病害的嚴重性。果樹栽培面積如果很小，進行抗病育種工作恐怕不是那麼迫切實際，所以在擬定育種目標時，栽培面積，病害威脅性或是否有其他可以取代抗病品種的防治方法都要考慮，抗病育種最好有病理人員配合而共組一個team。

鍾志明：有些品種為何在國外表現抗病而引進國內後則不抗病？其原因何在。

蕭吉雄：(1)病原生理小種之問題：國外抗病品種在國內不抗病，很多主要是race的問題。(2)環境：某些環境會影響發病情形或程度。環境對寄主植物會造成抗病性的差異，此類報告像蔬菜－番茄抗青枯病的品種在較低的溫度表現抗病，但在高溫情況下，則不抗病。

顏昌瑞：果樹抗病育種在生產面積小，短期果樹已發展無病毒苗木及適度減產有助於市場穩定之情形下，是否仍有必要。

蕭吉雄：可能無此必要，惟栽培抗病品種為最長久、安全且農民不需另外付出額外開支。